

БИОХИМИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

УДК 615.849.19

© Коллектив авторов

ВОЗМОЖНОСТИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДИАБЕТЕ ПРЕПАРАТАМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ТИПА ДЕЙСТВИЯ

Л.Д.Смирнов¹, В.И.Инчина², Я.В.Костин², Е.В.Кокорева², Ж.В.Боголюбова²

¹Институт биохимической физики им. Эмануэля РАН
г.Москва, 119991, ГСР 1, ул. Косыгина, 4, тел.(095) 939-7448, факс:(095)137-4101,
эл.почта:lbsmirnov@polymer.chph.ras.ru

²Мордовский государственный университет имени Н.П.Огарева (г.Саранск).

На модели экспериментального сахарного диабета у крыс показана возможность коррекции нарушений липидного, углеводного и белкового звеньев метаболизма на фоне применения сукцината 2-этил-6-метил-3-оксипиридина (СЭМОП) в дозе 25 и 5 мг/кг, димефосфона в дозе 100 мг/кг и альфа-токоферола в дозе 25 мг/кг. Преимуществом СЭМОПа является его способность корригировать снижение уровня общего белка и альбуминов сыворотки крови при экспериментальном диабете.

Ключевые слова: антиоксиданты, сахарный диабет, мексидол, метаболические нарушения, липидный обмен, пероксидация липидов.

ВВЕДЕНИЕ. Широкая распространенность сахарного диабета, исключительно ранняя инвалидизация больных, их высокая смертность дали экспертам ВОЗ основание определить ситуацию с диабетом как эпидемию неинфекционного заболевания и назвать борьбу с ним приоритетом первого порядка для национальных систем здравоохранения абсолютного большинства стран мира [1-3]. Сахарный диабет - эндокринно-метаболическое заболевание, при котором, помимо нарушений углеводного обмена, имеются отклонения во всех видах обмена [4]. Несмотря на многолетнее использование современных методов лечения сахарного диабета, многие вопросы его терапии остаются несовершенными. Традиционная терапия заболевания, частично нормализующая углеводный обмен, не устраняет метаболических нарушений и поэтому не предотвращает развитие тяжелых сосудистых осложнений диабета. В связи с этим соответствующий патогенетический подход к лечению наиболее распространенной эндокринной патологии требует включения в арсенал противодиабетических средств, препаратов с антиоксидантной активностью [5].

Целью нашего исследования было изучение возможности фармакологической коррекции метаболических сдвигов, возникающих на фоне экспериментального диабета, препаратами антиоксидантного типа действия: сукцинатом 2-этил-6-метил-3-оксипиридина (СЭМОП), димефосфоном, α -токоферолом.

АНТИОКСИДАНТЫ В ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

МЕТОДИКА. Экспериментальное исследование проведено на 54 половозрелых беспородных белых крысах обоего пола массой 180-200 г в осеннее время года, содержащихся в стандартных условиях вивария. После предварительной 24-часовой депривации пищи (при сохраненном доступе к воде) у крыс моделировали сахарный диабет путем однократного внутривентриального введения аллоксана [6] в дозе 135 мг/кг. Моделирование диабета происходило в течение 2-х недель, летальность составила 28%. На фоне коррекции диабета антиоксидантами гибели животных не отмечалось.

В ходе эксперимента животные были разделены на 6 групп. 1-я группа (n=6) интактные животные, 2-я группа (n=6) контрольная, включающая животных с аллоксановым диабетом, 3-я (n=7) группа включала крыс с аллоксановым диабетом, которым п/к ежедневно 1 раз в сутки вводили СЭМОП в дозе 25 мг/кг в течение 2-х недель. Для изучения дозозависимого эффекта крысам-диабетикам 4-й группы (n=7) вводили по той же схеме СЭМОП в дозе 5 мг/кг; 5-я группу (n=9) составили животные, которым коррекцию аллоксанового диабета проводили ежедневным подкожным введением (1 раз в день) димефосфона в дозе 100 мг/кг в течение 2-х недель; животным 6-й группы (n=6) на фоне диабета в течение 2-х недель ежедневно 1 раз в день подкожно вводили α -токоферол в дозе 25 мг/кг. Животных забивали путем декапитации, предварительно введя внутривентриально летальную дозу этиминала натрия (100 мг/кг). Глюкозу крови определяли натощак. Содержание в сыворотке крови глюкозы, общего холестерина, α -холестерина, триглицеридов, общего белка, альбуминов определяли на полуавтоматическом анализаторе "Hospitex screen master plus" (Швейцария). В сыворотке крови изучали содержание МДА по методу Конюховой с соавт. [7]; каталазы по методу Королюк с соавт. [8]. Результаты исследования обрабатывали методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Введение белым крысам аллоксана в дозе 135 мг/кг приводит к достоверному увеличению содержания глюкозы в сыворотке крови с $4,30 \pm 0,35$ ммоль/л до $8,76 \pm 0,26$ ммоль/л ($p < 0,001$), что составляет 203,5% по сравнению с интактными крысами (рис. 1).

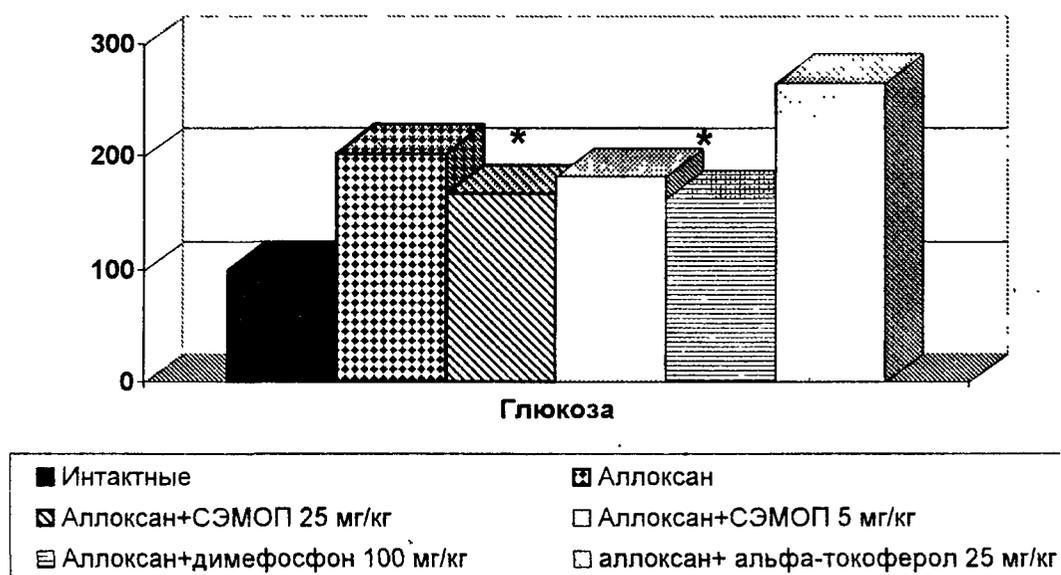


Рисунок.

Влияние СЭМОП (25 и 5 мг/кг), димефосфона (100.0 мг/кг) и альфа-токоферола (25 мг/кг) на уровень глюкозы в плазме крови крыс с аллоксановым диабетом (в % от исходного уровня)

Согласно исследованиям последних лет, гипергликемия при сахарном диабете является одной из главных причин многочисленных метаболических нарушений, приводящих к развитию сосудистых осложнений. В условиях гипергликемии происходит неферментативное гликирование белков [9]. Избыточный уровень глюкозы, а также продукты гликирования активируют процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) [10].

Введение с лечебно-профилактической целью СЭМОП в дозе 25 мг/кг и димефосфона (100 мг/кг) крысам с аллоксановым диабетом оказывает гипогликемическое действие, достоверно снижая уровень сахара в сыворотке крови с $8,76 \pm 0,26$ ммоль/л до $7,20 \pm 0,34$ ($p_k < 0,01$) и $7,0 \pm 0,56$ ($p_k < 0,05$), что составило 82% и 79% по сравнению с контрольной группой (рис.1).

Применение СЭМОП в дозе 5 мг/кг предотвращает резкое повышение глюкозы в сыворотке крови, содержание которой составило 90% по сравнению с животными контрольной группы. Как показали наши исследования, введение α -токоферола в дозе 25 мг/кг не предотвращает повышение содержания глюкозы в сыворотке крови, содержание которой составляет 131% по сравнению с крысами контрольной группы. Анализируя полученные результаты, препараты по убыванию гипогликемического эффекта можно расположить в следующий ряд димефосфон 100 мг/кг > СЭМОП 25 мг/кг > СЭМОП 5 мг/кг

Механизм гипогликемического действия препаратов, возможно, обусловлен ингибированием ими ПОЛ. Согласно данным литературы, мексидол способствует утилизации клетками глюкозы [11]. Наряду с этим, антиоксиданты способны задерживать перекисную модификацию ЛПНП, снижать гликирование белков [11,12].

Наши данные подтвердили имеющиеся в литературе многочисленные сведения об интенсификации перекисного окисления липидов (ПОЛ) при сахарном диабете [9,13], о чем свидетельствует повышение уровня вторичного продукта ПОЛ малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови крыс с аллоксановым диабетом с $11,9 \pm 0,66$ мкмоль/л до $42,1 \pm 0,61$ мкмоль/л ($p < 0,001$), что составляет 354% по сравнению с интактными крысами. Возрастает и каталазная активность с $0,06 \pm 0,01$ мкат/сек/л до $0,32 \pm 0,01$ мкат/сек/л ($p < 0,001$), что составляет 498% к интактной группе (табл. 1).

На фоне коррекции антиоксидантами снижается активность ПОЛ у крыс с аллоксановым диабетом (табл. 1.). Применение СЭМОП в дозе 25 мг/кг у крыс с экспериментальным диабетом ведет к уменьшению содержания МДА в сыворотке крови с $42,1 \pm 0,61$ мкмоль/л до $8,13 \pm 0,3$ мкмоль/л ($p_k < 0,001$), уровень каталазной активности снижается с $0,32 \pm 0,01$ мкат/сек/л до $0,20 \pm 0,01$ мкат/сек/л ($p_k < 0,001$), что составляет 19% и 61,6% по сравнению с контрольной группой. На фоне коррекции СЭМОП в дозе 5 мг/кг отмечено снижение уровня МДА и каталазной активности на 88% и 46% по сравнению с контролем. У крыс диабетиков на фоне применения димефосфона (100 мг/кг) уровень МДА снижается с $42,1 \pm 0,61$ мкмоль/л до $8,15 \pm 0,34$ мкмоль/л ($p_k < 0,001$), снижается и уровень каталазной активности с $0,32 \pm 0,01$ мкат/сек/л до $0,26 \pm 0,02$ мкат/сек/л ($p < 0,001$), что составляет 19,4% и 80,9% соответственно, по сравнению с животными контрольной группы. Введение α -токоферола (25 мг/кг) у крыс с диабетом достоверно снижает концентрацию МДА и уровень каталазной активности. Анализируя полученные в ходе нашего исследования результаты, препараты по способности снижать уровень МДА в сыворотке крови можно расположить в следующий ряд. СЭМОП (25 мг/кг) > димефосфон (100 мг/кг) > СЭМОП (5 мг/кг) > α -токоферол (25 мг/кг).

По способности снижать каталазную активность, исследуемые вещества расположились в таком порядке: α -токоферол 25 мг/кг > СЭМОП 25 мг/кг > СЭМОП 5 мг/кг > димефосфон 100 мг/кг.

Таким образом, на фоне экспериментального диабета происходит увеличение уровня МДА, что, несомненно, отражает активацию свободно-радикального окисления в целом. Усиление процессов перекисной окисления липидов может быть связано с увеличением уровня глюкозы, СЖК, липидов [14].

АНТИОКСИДАНТЫ В ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

Таблица 1. Динамика показателей ПОЛ в сыворотке крови при экспериментальном диабете у крыс на фоне антиоксидантной терапии.

Показатели Группы животных	МДА, мкмоль/л	Каталаза, мкат/сек/л
Интактные	11,9 ± 0,66	0,06 ± 0,01
Контроль (аллоксан 135 мг/кг)	42,1 ± 0,61 $p_n < 0,0001$	0,32 ± 0,01 $p_n < 0,0001$
Аллоксан + СЭМОП 25 мг/кг	8,13 ± 0,3 $p_n < 0,001$ $p_k < 0,0001$	0,2 ± 0,01 $p_n < 0,0001$ $p_k < 0,0001$
Аллоксан + СЭМОП 5 мг/кг	9,24 ± 0,33 $p_n < 0,01$ $p_k < 0,0001$	0,2 ± 0,01 $p_n < 0,0001$ $p_k < 0,0001$
Аллоксан + димефосфон 100 мг/кг	8,15 ± 1,34 $p_n < 0,001$ $p_k < 0,0001$	0,26 ± 0,02 $p_n < 0,001$ $p_k < 0,05$
Аллоксан + α -токоферол 25 мг/кг	9,5 ± 0,44 $p_n < 0,55$ $p_k < 0,0001$	0,16 ± 0,004 $p_n < 0,001$ $p_k < 0,0001$

Примечание. p_n - достоверность различия рассчитана к интактным, p_k - к контролю.

Согласно результатам нашего исследования, на фоне коррекции диабета антиоксидантами наблюдается снижение вторичного продукта ПОЛ, а также снижение активности каталазы - фермента антиоксидантной защиты. Однако, имеется соответствие между степенью снижения МДА и каталазы, что свидетельствует об адекватной реакции антиоксидантной системы при коррекции препаратами антиоксидантного типа действия.

Состояние липидного обмена у экспериментальных животных характеризовали, определяя содержание общего холестерина (ХС), α -холестерина (а-ХС), триглицеридов (ТГ) в сыворотке крови. Согласно результатам нашего исследования, у крыс с аллоксановым диабетом достоверно повышается уровень всех показателей липидного спектра крови (табл.2). Так, уровень ХС повышается с 1,74

Таблица 2 Динамика показателей липидного обмена в сыворотке крови белых крыс на фоне аллоксанового диабета.

Показатели	Холестерин ммоль/л	α -Холестерин ммоль/л	Триглицериды ммоль/л
Серии			
Интактные	1,74 ± 0,17	0,83 ± 0,014	0,6 ± 0,05
Контроль (аллоксан 135 мг/кг)	4,31 ± 0,34 $p_n = 0,001$	2,93 ± 0,13 $p_n < 0,001$	1,77 ± 0,14 $p_n < 0,001$
Аллоксан + СЭМОП 25 мг/кг	3,06 ± 0,29 $p_n < 0,01$ $p_k < 0,05$	1,47 ± 0,12 $p_n < 0,001$ $p_k > 0,05$	0,83 ± 0,02 $p_n < 0,01$ $p_k < 0,001$
Аллоксан + СЭМОП 5 мг/кг	3,24 ± 0,29 $p_n < 0,01$ $p_k < 0,05$	1,89 ± 0,19 $p_n < 0,001$ $p_k < 0,01$	0,96 ± 0,07 $p_n < 0,01$ $p_k < 0,01$
Аллоксан + димефосфон 100 мг/кг	2,9 ± 0,2 $p_n < 0,01$ $p_k < 0,01$	2,01 ± 0,14 $p_n < 0,001$ $p_k < 0,001$	0,90 ± 0,08 $p_n < 0,05$ $p_k < 0,001$
Аллоксан + α -токоферол 25 мг/кг	2,45 ± 0,39 $p_n < 0,05$ $p_k < 0,01$	1,48 ± 0,21 $p_n < 0,05$ $p_k < 0,001$	1,02 ± 0,12 $p_n < 0,05$ $p_k < 0,01$

Примечание: достоверность p_n рассчитана к интактным, p_k - к контролю.

$\pm 0,17$ ммоль/л до $4,31 \pm 0,34$ ммоль/л ($p < 0,001$), что составляет 247,7% по отношению к интактным животным. Аналогично растет в сыворотке уровень ТГ с $0,6 \pm 0,005$ ммоль/л до $1,77 \pm 0,14$ ммоль/л ($p < 0,001$), что составляет 287,8% по сравнению с интактной группой. Обращает на себя внимания тот факт, что увеличивается и содержание α -ХС до 351% по сравнению с интактными крысами (табл.2).

Исследованиями последних лет показано, что ХС и ТГ являются независимыми факторами риска развития атеросклероза и сердечно-сосудистых осложнений, кроме того, их сочетание дает взаимоусиливающий эффект. Так, при сочетании высокого уровня ТГ и высокого уровня ХС смертность от острого инфаркта миокарда у больных диабетом увеличивается в 12 раз [15,16].

Доказано, что при СД фракция ЛПВП обогащается и ТГ, т.е. они модифицируются, что ведет к развитию нарушений на уровне ЛПВП - клеточных взаимодействий, лежащих в основе механизма липидных расстройств [4]. Кроме того, качественные изменения ЛПВП у больных СД могут выражаться в гликировании входящих в состав ЛПВП белков [17,18], перекисном окислении, изменении соотношения липидов и увеличении числа малых плотных ЛПВП [3,19]. Применение СЭМОП в дозе 25 мг/кг с лечебно-профилактической целью уменьшает в сыворотке крови уровень общего ХС и ТГ, содержание которых составляет 74% и 46,8% по сравнению с контролем, концентрация α -ХС не претерпевает значимых изменений.

На фоне применения СЭМОП в дозе 5 мг/кг отмечается достоверное снижение общего ХС с $4,31 \pm 0,34$ ммоль/л до $3,24 \pm 0,29$ ммоль/л ($p_x < 0,05$), ТГ с $1,77 \pm 0,07$ ммоль/л до $0,96$ ммоль/л ($p_x < 0,01$), б-ХС с $2,93 \pm 0,13$ ммоль/л до $1,42$ ммоль/л ($p_x < 0,01$), что составляет 75%, 64% и 54% по сравнению с животными контрольной группы.

У крыс с диабетом α -токоферол и димефосфон оказывают гипохолестеринемическое действие, достоверно снижая в сыворотке крови содержание общего ХС до 56,8% и 67% по сравнению с контролем; α -ХС с $2,93 \pm 0,13$ ммоль/л до $1,48 \pm 0,21$ ммоль/л ($p_x < 0,01$) и $2,01 \pm 0,14$ ммоль/л ($p_x < 0,01$) (50,7% и 68% по отношению к контрольной группе). Также наблюдается снижение уровня ТГ в сыворотке крови до 57,9% и 51% по сравнению с контролем.

Анализируя полученные результаты, по убыванию гипохолестеринемического действия препараты можно расположить следующим образом: α -токоферол (25 мг/кг) > димефосфон (100 мг/кг) > СЭМОП 25 мг/кг > СЭМОП 5 мг/кг. По способности снижать уровень ТГ в сыворотке крови препараты можно расположить в следующий ряд: СЭМОП (25 мг/кг) > димефосфон (100 мг/кг) > СЭМОП (5 мг/кг) > α -токоферол (25 мг/кг)

Согласно результатам нашего исследования, у крыс с аллоксановым диабетом концентрация общего белка достоверно снижалась до 68% по сравнению с интактными крысами. Существенную негативную динамику претерпевает содержание альбуминов в сыворотке крови, концентрация которых падает с $41 \pm 0,52$ г/л до $28,89 \pm 1,25$ г/л ($p_x < 0,001$), что составляет 70% по сравнению с интактными животными.

Введение СЭМОП в дозе 25 мг/кг у крыс с диабетом позволило предотвратить резкое снижение общего белка, содержание которого составило 128% по сравнению с контролем. Уровень альбуминов возрастает с $28,8 \pm 1,25$ г/л до $39 \pm 1,7$ г/л ($p_x < 0,001$), составляя 110% по отношению к контрольной группе. На фоне применения СЭМОП в дозе 5 мг/кг наблюдается достоверное повышение общего белка и альбуминов, содержание которых составило 131,9% и 138,8 % по сравнению с контролем. В нашем исследовании применение димефосфона не устраняет нарушения в белковом обмене, на фоне которого наблюдается снижение общего белка и альбуминов. При использовании α -токоферола отмечается достоверное повышение содержания общего белка и альбуминов до 134,3% и 130,7% по сравнению с контрольной группой.

АНТИОКСИДАНТЫ В ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

По уменьшению способности нормализовать нарушения в белковом обмене, препараты можно расположить в следующий ряд: общий белок: α -токоферол > СЭМОП 5 мг/кг > СЭМОП 25 мг/кг; альбумины - СЭМОП 5 мг/кг > СЭМОП 25 мг/кг > α -токоферол.

Таким образом, применение антиоксидантов корригирует нарушения в белковом обмене. Реализация этого эффекта, возможно, связана с мембраностабилизирующим действием, а также ингибированием свободно-радикального окисления [20]. Преимущество СЭМОП заключается также и в сохранении высокого уровня альбумина в сыворотке крови, связывающего токсины и способного предотвращать образование свободных радикалов, а также в более выраженном снижении уровня триглицеридов в сыворотке крови при экспериментальном диабете [19].

ВЫВОДЫ. 1. На фоне аллоксанового диабета отмечается гипергликемия, ускорение процессов пероксидации, нарушения в липидном обмене атерогенного характера, нарушения в белковом обмене.

2. Применение препаратов антиоксидантного типа действия уменьшает степень выраженности гипергликемии, нормализует липидный спектр сыворотки крови, снижает скорость свободнорадикального окисления, предотвращает нарушение в белковом обмене.

Полученные результаты позволяют рассматривать антиоксиданты как весьма перспективную группу препаратов для предупреждения метаболических сдвигов при диабете.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балаболкин М. И., Креминская В. М. (1999) Тер. архив., N10, 5-12.
2. Дедов И. И. (2000) Врач, 1, 5-8.
3. Саввин В. Я., Саввина Т. И. (2001) Науки о человеке. Сборник статей молодых ученых и специалистов. Томск: STT, с. 39-40
4. Курашвили Л. В., Семечкина Е. А., Адонина Т. С., Зуева Г. Ф., Захарова И. Р. (1998) Пробл. эндокринолог., 3, 10-12.
5. Юрина М. А. (2001) Науки о человеке. Сборник статей молодых ученых и специалистов. Томск: STT, с. 65-66.
6. Киселева Н. Г., Метельская В. А., Перова Н. В. (1998) Кардиология, N12, 77-81.
7. Конюхова С. Г., Дубрикайтис А. Ю., Шабуневич Л. В. (1989) Бюлл. экспер. биол. мед., N5, 557-559.
8. Королюк М. А., Иванова А. И., Майорова И. Г. (1988) Лаб. дело, N1, 16-18.
9. Шустов С. Б., Ромашевский Б. В., Халимов Ю. Ш., Степанова О. Ю., Лысенко А. Г. (2000) Клин. мед., N11, 45-48.
10. Никифоров О. Н., Сазонова О. В., Суханова Л. Я., Князькова Л. Г., Галенок В. Я. (1997) Пробл. эндокринолог., N5, 16-19.
11. Балаболкин М. И., Смирнов Л. Д., Клебанова Е. М., Креминская П. М. (2002) В сб.: Биоантиоксидант. Москва, с. 66-57.
12. Климов А. Н., Нагорнов В. Я. (1999) Вестник РАМН, №9, 32-37.
13. Строков И. А., Манухина Е. Б., Бахтина Л. Ю., Мальшев И. Ю. (2000) Бюлл. экспер. биол. мед., N10, 437-441.
14. Агеева В. В., Красильникова Е. И., Зубина И. М., Шляхто Е. В. (2000) Клин. мед., N2, 46-49.
15. Шестакова М. В. (1999) Тер. архив, N1, 67-79.
16. Walldius J. (1996) Highlights from the Third of a Series of Diabetes. - Vienna.

17. Berthezene F. (1996) *Atherosclerosis*, **124**, Suppl., 39-42.
18. Syvannt M., Taskinen M. R. (1997) *Lancet*, **350**, Suppl, **1**: 20-23.
19. Петросян Э. А., Оноприев В. Н., Дубинкин О. В., Голубцов В. В., Любавин А. Н., Петровский А. Н. (1998) *Вестник интенсивной терапии*, **N4**, 63-64.
20. Бобырева Л. Е. (1998) *Экспер. клин. фармакол.*, **N1**, 74-80.

Поступила 18.01.2002.

**POSSIBLE PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF METABOLIC IMPAIRMENTS
EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS BY ANTIOXIDANT**

L.D.Smirnov¹, V.I.Inchina², J.V.Kostin², E.V.Kokoreva², Z.V.Bogoljubova²

**Institute of Biochemical Physics RAS, Kocygina str., 4, Moscow, 119991; tel: (095)939-74-78;
fax:(095)137-41-01; e-mail: lbsmirnov@chphras.ru
2N.P.Ogarev State University, Saransk, Russia**

On model of experimental diabetes in rats the possibility of correction of impairments of lipid, carbohydrate and albumin metabolism by SEMOP in a dose of 25 or 5 mg / kg, dimephosphone (100 mg / kg) and alpha-tocopherol (25 mg/kg) has been. Advantage of SEMOP consists in its ability to decrease a level of total protein and albumin of blood of animals with experimental diabetes.

Key words: antioxidants, experimental diabetes, SEMOP, metabolic infringements, lipid peroxidation.